



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten	: UNIVERSITAS DIPONEGORO JL. Prof. Soedarto, SH Tembalang Semarang 50275 INDONESIA
Untuk Invensi dengan Judul	: PASANGAN PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (VGSC) PADA NYAMUK AEDES AEGYPTI LINNAEUS
Inventor	: Dwi Sutningsih
Tanggal Penerimaan	: 04 Oktober 2016
Nomor Paten	: IDS000001759
Tanggal Pemberian	: 15 Februari 2018

Perlindungan Paten Sederhana untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001

00001759

(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000001759 B

(13) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 15 Februari 2018

(51) Klasifikasi IPC⁸: C 12N 15/09, C 12Q 1/68

(21) No. Permohonan Paten : S00201606692

(2) Tanggal Penerimaan: 04 Oktober 2016

Data Prioritas :

(31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara

Tanggal Pengumuman: 20 Januari 2017

okumen Pembanding:

li Rochmijati Wulandari et al, Association between Three
tations, F1565C, V1023G and S996P, in the Voltage-Sensitive
lum Channel Gene and Knockdown Resistance in *Aedes*
pti from Yogyakarta, Indonesia; Insect. 2015 Sep; 6(3): 658-

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten :
UNIVERSITAS DIPONEGORO

JL. Prof. Soedarto,
Sh Tembalang Semarang 50275
INDONESIA

(72) Nama Inventor :
Dwi Sutiningsih, ID

Pemeriksa Paten : Dra. Sri Sulistiyani, M.Si.

Jumlah Klaim : 1

versi : PASANGAN PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (VGSC) PADA NYAMUK *Aedes Aegypti*
LINNAEUS

elah diungkapkan invensi tentang pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Ae. aegypti* (L) yang dari terdiri dari sekuen hulu
tan nukleotida 5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA 3' dan sekuen hilir dengan susunan 3'ATGGAAATGCCTTACCA5', dimana
10 primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti*(L) setelah
arvasida/insektisida. Pasangan primer invensi juga bisa digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada jenis
ektisida kimia, sintetis atau bahan alam lainnya.

HASIL PCR VGSC PADA LARVA *Ae. aegypti* (L)

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

1000 bp
750 bp
500 bp
250 bp

336 bp



KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA RI
DIREKTORAT JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
DIREKTORAT PATEN

Jln. H.R. Rasuna Said, Kav. 8-9 Kuningan Jakarta Selatan 12940
 Phone/Facs. (6221) 57905611; Website: www.dgip.go.id

INFORMASI BIAYA TAHUNAN

Nomor Paten : IDS000001759 Tanggal diberi : 15/02/2018 Jumlah Klaim : 1
 Nomor Permohonan : S00201606692 IPAS Filing Date : 04/10/2016
 Entitlement Date : 04/10/2016

Berdasarkan Undang-undang No. 13 Tahun 2016 tentang Paten, dan Peraturan Pemerintah Nomor 45 tahun 2014 tentang Jenis dan Tarif Atas Jenis Penerimaan negara Bukan Pajak Yang Berlaku Pada Kementerian Hukum dan Hak Asasi Manusia, biaya tahunan yang harus dibayarkan adalah sebagaimana dalam tabel di bawah.

Biaya Tahunan Ke-	Periode Perlindungan	Batas Akhir Pembayaran	Biaya Dasar	Jml Klaim	Biaya Klaim	Total	Terlambat (Bulan)	Total Denda	Jumlah Pembayaran
1	04/10/2016-03/10/2017	14/08/2018	0	1	0	0	0	0	0
2	04/10/2017-03/10/2018	14/08/2018	0	1	0	0	0	0	0
3	04/10/2018-03/10/2019	14/08/2018	0	1	0	0	0	0	0
4	04/10/2019-03/10/2020	05/09/2019	0	1	0	0	0	0	0
5	04/10/2020-03/10/2021	05/09/2020	0	1	0	0	0	0	0
6	04/10/2021-03/10/2022	05/09/2021	165.000	1	5.000	170.000	0	0	170.000
7	04/10/2022-03/10/2023	05/09/2022	220.000	1	5.000	225.000	0	0	225.000
8	04/10/2023-03/10/2024	05/09/2023	275.000	1	5.000	280.000	0	0	280.000
9	04/10/2024-03/10/2025	05/09/2024	330.000	1	5.000	335.000	0	0	335.000
10	04/10/2025-03/10/2026	05/09/2025	385.000	1	5.000	390.000	0	0	390.000

Biaya yang harus dibayarkan untuk pertama kali hingga tanggal 13/04/2018 (tahun ke-1 s.d 3) adalah sebesar 0

- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali wajib dilakukan paling lambat 6 (enam) bulan terhitung sejak tanggal diberi paten
- Pembayaran biaya tahunan untuk pertama kali meliputi biaya tahunan untuk tahun pertama sejak tanggal penerimaan sampai dengan tahun diberi Paten ditambah biaya tahunan satu tahun berikutnya.
- Pembayaran biaya tahunan selanjutnya dilakukan paling lambat 1 (satu) bulan sebelum tanggal yang sama dengan Tanggal Penerimaan pada periode perlindungan tahun berikutnya.
- Penundaan pembayaran biaya tahunan dapat dilakukan dengan mengajukan surat permohonan untuk menggunakan mekanisme masa tenggang, diajukan paling lama 7 hari kerja sebelum tanggal jatuh tempo pembayaran biaya tahunan
- Dalam hal biaya tahunan belum dibayarkan sampai dengan jangka waktu yang ditentukan, Paten dinyatakan dihapus

**PASANGAN PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (VGSC) PADA
NYAMUK AEDES AEGYPTI LINNAEUS**

Bidang Teknik Invensi :

10 Invensi ini secara umum berkaitan dengan sekuen primer gen VGSC (Voltage-Gated Sodium Channel). Secara khusus berkaitan dengan sekuen pasangan primer gen VGSC (Voltage-Gated Sodium Channel) untuk mengetahui adanya penghambatan gen VGSC setelah pemberian suatu senyawa (larvasida/insektisida) pada nyamuk *Aedes aegypti* (L).

15

Latar Belakang Invensi

Penggunaan temefos dan sipermetrin secara terus menerus dalam pengendalian vektor penyakit menimbulkan permasalahan seperti resistensi, matinya hewan non target dan pencemaran lingkungan. Resistensi temefos dan sipermetrin telah dilaporkan di beberapa negara termasuk di Indonesia. Kondisi ini mengharuskan kebutuhan akan penggunaan larvasida/insektisida alami yang berasal dari tanaman atau isolasi bahan aktif tanaman untuk pengendalian vektor penyakit. Salah satu larvasida/insektisida alami tersebut adalah Brucein A yang diisolasi dari Buah Makasar (*Brucea javanica* L. Merr). Penggunaan larvasida alami ini relatif aman dan lebih menguntungkan, karena sifat residunya yang lebih mudah terdegradasi dan relatif tidak mudah mencemari lingkungan (Daniel et al., 2005; Isman, 2008). Larvasida/insektisida alami ini mempunyai potensi karena mampu membunuh nyamuk *Ae aegypti* (L) akibat zat toksik yang dikandungnya. Mekanisme kematian larva *Ae. aegypti* (L) melalui penghambatan gen VGSC akibat pemberian brucein A pada berbagai konsnetrasi. Struktur gen VGSC ini sebagai protein transmembran yang terdapat pada sel syaraf

35

an sel otot yang berperan dalam potensial aksi sel. Protein VGSC merupakan bagian dari protein superfamili. Sub unit penyusun VGSC adalah rantai polipeptida yang terdiri dari 1800 asam amino (Kasai et al., 2011; Kuswah et al., 2015). Prinsip kerja gen VGSC adalah meneruskan potensial aksi menjadi *signaling* pada sel syaraf lainnya. Potensial aksi dimulai pada saat serabut syaraf terstimulasi maka VGSC akan terbuka dan ion natrium yang bermuatan positif akan bergerak ke dalam sel mengubah potensial istirahat (*polarisasi*) menjadi potensial aksi (depolarisasi) sehingga terbentuk membran potensial, beberapa milidetik kemudian *channel*/lubang kembali menutup dan sinyal diteruskan ke sel syaraf lainnya (Safar, 2010; Kasai et al., 2011, Kuswah et al., 2015). Bila digunakan larvasida/insektisida brusein A maka *channel* Natrium yang seharusnya tertutup akan tetap terbuka sehingga Natrium akan tetap berada di dalam sel menimbulkan *discharge* aksi potensial yang terus-menerus di dalam sel syaraf sehingga menyebabkan hipereksitasi, konvulsi dan paralisis. Adanya penghambatan gen VGSC ini dapat diketahui dengan menggunakan teknik pemeriksaan PCR. Hasil pemeriksaan PCR akan terlihat adanya fragmen pita / *band* dengan panjang 336 bp. Pemberian brusein A konsentrasi 16 ppm pada nyamuk *Ae. aegypti* (L) menunjukkan adanya gambaran fragmen pita/*band* yang memiliki panjang 336 bp, seperti halnya pada pemberian sipermetrin dengan berbagai konsentrasi. Hal ini membuktikan bahwa brusein A konsentrasi 16 ppm dapat menghambat aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti* (L). Pasangan primer gen VGSC ini terdiri dari pasangan primer yaitu *forward* (ujung 5') (yang untuk selanjutnya disebut hulu dan *reverse* (ujung 3') (yang untuk selanjutnya disebut hilir).

Ringkasan Invensi

Invensi ini bertujuan untuk menyediakan sekuen primer gen VGSC yang dirancang untuk mengetahui adanya penghambatan aktivitas gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti* (L) dengan menggunakan teknik pemeriksaan PCR.

Invensi ini mengenai pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Ae. aegypti* (L) yang dari terdiri dari sekuen hulu dengan urutan nukleotida 5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA 3' dan sekuen hilir dengan susunan 3'ATGGAAATGCCTTACCA5', dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti*(L) setelah pemberian larvasida/insektisida.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 adalah hasil visualisasi elektroforesis penghambatan gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti* (L) setelah perlakuan brusein A dan kontrol dengan metode PCR. Untuk memberikan ilustrasi dari invensi ini, terlihat pada gambar suatu produk PCR berupa fragmen pita/band DNA VGSC dengan panjang 336 bp pada nyamuk *Ae. aegypti* (L) setelah pemberian larvasida/insektisida Brusein A berbagai konsentrasi (0,5; 1;2;4;8;16 ppm) (nomer 8-13) kontrol (nomer 1), dan dengan perlakuan Sipermetrin berbagai konsentrasi (0,5;1; 2;4;8;12 µl) (nomer 2-7). Produk PCR ini menunjukkan bahwa pasangan primer gen VGSC yang terdiri dari sekuen hulu (5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA) dan sekuen hlir (3'ATGGAAATGCCTTACCA) sudah ideal. Perlu ditekankan bahwa invensi ini tidak hanya terbatas pada penggunaan larvasida/insektisida brusein A saja tetapi bisa digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida lainnya pada gen VGSC nyamuk *Ae. aegypti*(L).

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini bertujuan untuk menyediakan sekuen pasangan primer gen VGSC pada larva nyamuk *Ae. aegypti* (L) dengan teknik pemeriksaan PCR. Sekuen primer gen VGSC ini terdiri dari hulu sekuen (CGGGAGGTAAGTTATTGTGA) dan hilir sekuen ((ATGGAAATGCCTTACCA).

Pasangan primer invensi ini diperoleh dengan menggunakan software primer3. Pasangan primer yang diperoleh kemudian dilakukan pengujian elektroforesis untuk mengetahui visualisasi fragmen pita/band sepanjang 336 bp. Dari hasil elektroforesis

diperoleh adanya fragmen pita/ band DNA VGSC sepanjang 336 bp dibawah pengamatan sinar UV.

Spesifikasi primer hulu sekuen invensi ini berupa urutan basa nukleotida 20 mer (25 nMole DNA Oligo, 3 OD, t_m : 55,26 ; GC content : 45%) sedangkan sekuen hilir terdiri dari urutan basa nukleotida 19 mer (25 nMole DNA Oligo, 3OD, t_m : 54,67 ; GC content : 42,11%). Primer gen VGSC ini diencerkan dengan menambahkan 90 mikroliter ddH₂O dalam 10 mikroliter primer. Hasil produk PCR dapat diamati dibawah sinar UV yaitu berupa fragmen pita/band DNA VGSC dengan panjang 336 bp. Primer gen VGSC ini pertama kali digunakan pada tanggal 27 Juli 2016 di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Pasangan primer gen VGSC ini digunakan untuk mengetahui adanya penghambatan gen VGSC pada larva *Ae. aegypti* (L) setelah pemberian Brusein A berbagai konsentrasi (0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 8 ; 16 ppm, dan Sipermetrin berbagai konsentrasi (1,2,4,8,12 mikroliter) dengan teknik pemeriksaan PCR. Dari Gambar 1, menunjukkan adanya produk PCR berupa fragmen pita/band DNA VGSC dengan panjang 336 bp. Pemberian Brusein A konsentrasi 16 ppm pada larva nyamuk *Ae. aegypti* (L) menunjukkan adanya fragmen pita/band yang memiliki panjang 336 bp, seperti halnya pada pemberian Sipermetrin dengan berbagai konsentrasi. Hal ini membuktikan bahwa brusein A konsentrasi 16 ppm dapat menghambat gen VGSC pada larva nyamuk *Ae. aegypti* (L). Produk PCR ini menunjukkan bahwa pasangan primer gen VGSC yang terdiri dari sekuen hulu (5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA) dan hilir sekuen (3' ATGGAAATGCCTTACCA) sudah ideal. Penggunaan pasangan primer gen VGSC ini tidak hanya untuk larvasida/insektisida Brusein A saja tetapi bisa juga digunakan untuk mengetahui mekanisme aksi larvasida/insektisida lainnya pada penghambatan gen VGSC nyamuk *Ae. aegypti*(L).

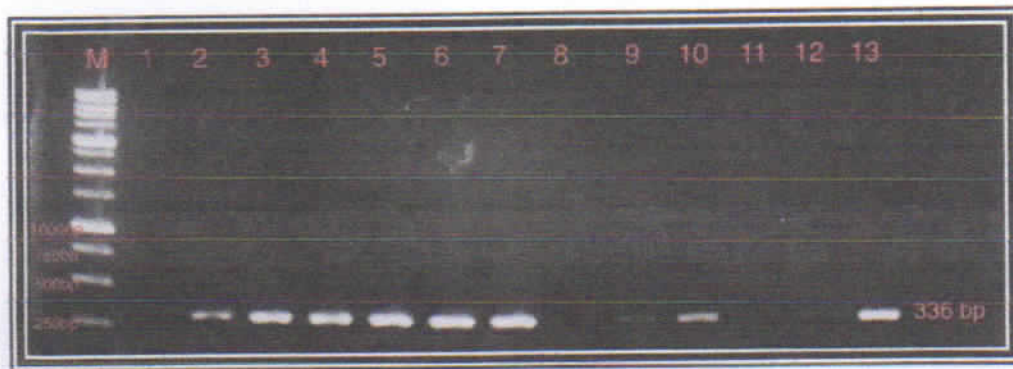
klaim

1. Suatu pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Ae. aegypti* (L) yang dari terdiri dari :
 - Sekuen hulu, dengan urutan nukleotida 5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA 3' dan
 - Sekuen hilir, dengan susunan 3'ATGGAAATGCCTTACCA5',dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti*(L) setelah pemberian larvasida/insektisida.

**PASANGAN PRIMER GEN VOLTAGE-GATED SODIUM CHANNEL (VGSC) PADA
NYAMUK *Aedes Aegypti* LINNAEUS**

Telah diungkapkan invensi tentang pasangan primer gen VGSC untuk nyamuk *Ae. aegypti* (L) yang dari terdiri dari sekuen hulu dengan urutan nukleotida 5'CGGGAGGTAAGTTATTGTGA 3' dan sekuen 10 hilir dengan susunan 3'ATGGAAATGCCTTACCA5', dimana pasangan primer tersebut dapat digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada nyamuk *Ae. aegypti*(L) setelah pemberian larvasida/insektisida. Pasangan primer invensi juga bisa digunakan untuk mengetahui penghambatan gen VGSC pada jenis 15 larvasida/insektisida kimia, sintetik atau bahan alam lainnya.

000001759



Gambar 1